



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANA VITÓRIA DA SILVA ARAÚJO**

**SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE  
NITROGÊNIO ASSOCIADAS AO FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* (L.) WALP)**

**AREIA**

**2020**

**ANA VITÓRIA DA SILVA ARAÚJO**

**SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE  
NITROGÊNIO ASSOCIADAS AO FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* (L.) WALP)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal da Paraíba como requisito  
parcial para a obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

**Orientador:** Prof. Dr. Flávio Pereira de Oliveira

**AREIA**

**2020**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

A663s Araujo, Ana Vitoria da Silva.

Seleção e caracterização de bactérias fixadoras de nitrogênio associadas ao feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) walp) / Ana Vitoria da Silva Araujo. - João Pessoa, 2020.

34 f. : il.

Orientação: Flávio Pereira de Oliveira.  
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. *Vigna unguiculata*. 2. FBN. 3. NaCl. 4. Estresse. I. Oliveira, Flávio Pereira de. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

ANA VITÓRIA DA SILVA ARAÚJO

SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO  
ASSOCIADAS AO FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* (L.) WALP)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal da Paraíba como requisito  
parcial para a obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

Aprovada em: 17/04/2020

BANCA EXAMINADORA



Prof. Flávio Pereira de Oliveira, Dr.

DSER/CCA/UFPB

Orientador



Bióloga Adriana Ferreira Martins, Dra.

PPGCS/CCA/UFPB

Examinador



Pedro Luan Ferreira da Silva, Eng. Agr.

Mestrando em Agronomia - Universidade Estadual de Maringá (PR)

Examinador

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, ao meu pai Antônio, minha mãe Marinalva e ao meu melhor amigo Rafael que sempre esteve ao meu lado quando mais precisava.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiro a Deus por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa com saúde e forças para chegar até o final.

A minha mãe Maria Marinalva, a meu pai Antônio Domingos, por todo apoio durante esses anos, sem eles eu não teria chegado aqui. A meu amigo Rafael que sempre acreditou no meu potencial mesmo quando eu não o vi.

Aos meus amigos, Hermann, Thatielly e Taynne, agradeço pelos bons momentos que passamos juntos e pela amizade cultivada durante esse tempo juntos, além das dificuldades enfrentadas neste período.

Em especial quero agradecer a Thatielly por ser uma pessoa cheia de vida e quase sempre louca, mas que sempre esteve ao meu lado nos momentos difíceis e que nunca me deixou desistir do meu trabalho me ajudando quase sempre a realizarmos mesmo quando nunca tínhamos tempo. Agradeço você muito, por ser a minha companheira nesse ciclo que está se concluindo.

E por fim quero agradecer a Prof<sup>a</sup> Adriana Ferreira Martins por ter aberto as portas da microbiologia e ter me ensinado muitas coisas durante esse tempo que fiz parte da Unidade de Pesquisa em Microbiologia do Solo (UPMS), ao Prof<sup>o</sup> Flávio Pereira de Oliveira, responsável pelo Laboratório de Física do Solo, por ter aceitado a tarefa de me orientar e apoiar neste final de curso. E a todos os outros professores que tive durante toda a caminhada, em especial Prof<sup>a</sup>. Laís Borges e Prof<sup>o</sup> Rosemberg Menezes que me ajudaram em um dos momentos que mais precisei durante a minha graduação.

Muito Obrigada!

## RESUMO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) comumente conhecido como feijão macassar, feijão-de-corda, feijão fradinho, feijão verde, ou feijão baiano, se constitui como a principal cultura de subsistência das regiões Norte e Nordeste do país. Além disso, se caracteriza como uma das principais fontes de energia e proteína na alimentação. A Seleção de isolados de rizóbio tolerantes a estresses de salinidade e temperatura, característicos da região semi-árida, amplia as chances de sucesso para a introdução de bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico em associação com a *Vigna unguiculata* L. Walp. Objetivou-se com este trabalho, selecionar e caracterizar morfológicamente isolados nativos de feijão- caupi, de regiões semiáridas, tolerantes a fatores abióticos. Os estudos microbiológicos foram realizados na Unidade de Pesquisa em Microbiologia do Solo (UPMS), Departamento de Solos e Engenharia Rural (DSER), do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), município de Areia, Paraíba. Procedeu-se a Seleção de nódulos e isolamento bacteriano, a partir de nódulos obtidos de raízes de feijão-caupi, proveniente de áreas agrícolas sob Neossolo Litólico com histórico de cultivo de feijão-caupi. Também foram feitos testes de tolerância *in vitro*, com diferentes variações de salinidade e temperatura. A partir dos dados de caracterização foram obtidos 12 isolados mais a recomendada. Onde 12 apresentaram crescimento rápido, e destes 10 possuíam a capacidade de acidificar o meio. Todas os isolados se mostraram tolerantes em relação as concentrações de NaCl e as diferentes temperaturas.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata*. FBN. NaCl. Estresse.

## ABSTRACT

The cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) commonly known as Macassar beans, rope beans, black-eyed beans, green beans, or Bahian beans, constitutes as the main subsistence crop of the North and Northeast regions of the country. In addition, it is characterized as one of the main sources of energy and protein in food. The selection of rhizobium isolates tolerant to salinity and temperature stresses, characteristic of the semi-arid region, increases the chances of success for the introduction of bacteria fixing atmospheric nitrogen in association with *Vigna unguiculata* L. Walp. The objective of this study was to select and characterize morphologically isolated native cowpea from semiarid regions, tolerant to abiotic factors. Microbiological studies were conducted at the Soil Microbiology Research Unit (UPMS), Department of Soils and Rural Engineering (DSER), Center for Agricultural Sciences (CCA), Federal University of Paraíba (UFPB), municipality of Areia, Paraíba. We proceeded the selection of nodules and bacterial isolation, from nodules obtained from cowpea roots, coming from agricultural areas under Entisol with a history of caupi bean cultivation. In vitro tolerance tests were also performed, with different salinity and temperature variations. A part of the characterization data were obtained 12 isolates plus the recommended. Where 12 showed rapid growth, and of these 10 had the ability to acidify the medium. All isolates were tolerant of NaCl concentrations and different temperatures.

**Key Words:** *Vigna unguiculata*. BNF. NaCl. Estress



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Troca de sinais químicos entre os simbiote Rizóbio-Planta.....	15
Figura 2 – Seleção e isolamento de nódulos em meio YMA.....	18
Figura 3 – Processo de diluição seriada para inoculação em placas com meio YMA 18 (vermelho congo e azul de bromotimol) .....	
Figura 4 – Análise morfológica das colônias de Bactérias	19
Figura 5 – Material catalogado e adicionado ao banco de dados da UPMS.....	20
Figura 6 – Características coloniais de isolados de rizóbios em meio YMA.....	21
Figura 7 – Dendograma de Dice com agrupamento dos isolados.....	24

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Área, produção e produtividade de feijão-caupi no Brasil (1985 a 2018) .....	13
Tabela 2 – Caracterização de química e fertilidade de solos utilizado na obtenção de 17 nódulos.....	
Tabela 3 – Caracterização morfofisiológica dos isolados.....	23
Tabela –4 Comportamento das estirpes de rizóbios submetidos a diferentes 25 temperatura e salinidade.....	

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
2.1	Geral.....	11
2.2	Específicos .....	11
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>11</b>
3.1	Cultura do Feijão-caupi .....	11
3.2	Fixação biológica do nitrogênio (FBN) .....	14
3.3	Fatores que influenciam a Fixação Biológica do Nitrogênio.....	16
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
4.1	Seleção de nódulos e isolamento bacteriano.....	17
4.2	Caracterização morfológica das estirpes.....	18
4.3	Crescimento em diferentes temperaturas .....	20
4.4	Crescimento em diferentes concentrações de NaCl.....	20
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>20</b>
5.1	Caracterização dos isolados .....	20
5.2	Resistência a diferentes estresses abióticos.....	25
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>27</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) comumente conhecido como feijão macassar, feijão-de-corda, feijão fradinho, feijão verde, ou feijão baiano (SOUZA, 2015), é o segundo feijão mais cultivado no Brasil de acordo com estimativas realizadas pela Embrapa Arroz e Feijão (2018). Produto de importância agrícola pelas suas características nutricionais, com elevado valor proteico, energético, vitamínico, mineral, apresentando todos os aminoácidos essenciais à alimentação humana, com grande quantidade de fibras e baixo teor de gordura (SOBRINHO, 2016; SÁNCHEZ-NAVARRO, 2019).

Representa um recurso importante por ser uma planta capaz de resistir às condições de déficit hídrico, salinidade e temperatura (LARANJO & OLIVEIRA; 2011; VENTORINO, 2012). Tradicionalmente, é uma cultura de subsistência, cultivada por pequenos e médios agricultores de base familiar, cujo excedente de produção é comercializado em feiras livres como feijão-verde. No entanto, a cultura do feijão-caupi tem avançado para áreas mais técnicas e modernizadas, empregando práticas de correção, fertilização e irrigação, em rotação com outras culturas (RUMJANEK et al., 2005; MENEZES JUNIOR, 2017; RODRIGUES, 2018), que visa aumentar a produtividade.

A produção de feijão-caupi no Brasil está acontecendo nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (Silva et al., 2009; Conab, 2017). Perante o cenário brasileiro a Região Nordeste vem se destacando como a maior produtora e consumidora do país. No entanto apresenta baixa produtividade, em função de baixas técnicas envolvidas no seu cultivo.

Com isso vem sendo empregada novas tecnologias com a finalidade de melhorar a produtividade e qualidade do caupi. Dentre essas tecnologias, destaca-se a fixação biológica do nitrogênio (FBN) que vem ganhando espaço entre os grandes produtores agrícolas (ZILLI et al., 2009). A FBN é uma alternativa viável para o fornecimento de nitrogênio as plantas, por ser este o nutriente que mais limita a produtividade agrícola de solos tropicais (TORABIAN, 2019; CARVALHO, 2019)

O feijão caupi é capaz de estabelecer relação simbiótica com as bactérias presentes no solo chamadas coletivamente de rizóbio (TORABIAN, 2019; SÁNCHEZ-NAVARRO, 2019), que fixam o nitrogênio através das suas raízes formando estruturas especializadas denominadas de nódulos (RUMJANEK et al., 2005), que fixa o nitrogênio atmosférico e transforma em assimilados para planta (TORABIAN, 2019), suprimindo a necessidade da adubação mineral, sendo mais barata e viável para os agricultores.

Com isso é de suma importância os estudos voltados para a área da microbiologia do solo – tendo como ênfase a importância da caracterização de rizóbios nativos, eficientes na fixação biológica de nitrogênio (FBN), para *Vigna unguiculata*, adaptados ao clima semiárido e aos fatores que interferem na nodulação como, salinidade e altas temperaturas, é a contribuição direta para o entendimento de processos adaptativos dessas bactérias no meio ambiente, e que futuramente possa ser empregado na produção e utilização de inoculantes pelos agricultores para o incremento na produção do feijão-caupi, em especial no Estado da Paraíba.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Caracterizar estirpes bacterianas nativas para plantas de *Vigna unguiculata* L. Walp oriundas de solos da mesorregião do Sertão Paraibano.

### 2.2 Específicos

Caracterizar morfologicamente as estirpes obtidas a partir de nódulos retirados das raízes de feijão-caupi,

Avaliar o crescimento de estirpes noduladoras submetidas a diferentes temperaturas e salinidades.

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Cultura do Feijão-caupi

O feijão-caupi é uma dicotiledônia, pertencente à ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolinea gênero *Vigna* e a espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Embora nas primeiras classificações tenha sido posto em outros gêneros, como *Phaseolus* e *Dolichos*, hoje sua colocação em *Vigna* é mundialmente aceita (FREIRE FILHO, 1988; FRIGO, 2013).

O gênero *Vigna* é amplamente difundido nas regiões tropicais. Sendo sua maioria encontrada na África, entre as espécies que ocorrem neste continente está *Vigna unguiculata* (L.) Walp (FREIRE FILHO, 1988; BEZERRA, 2009).

Sua introdução no Brasil foi por volta do século XVI por colonizadores portugueses e espanhóis, no Estado da Bahia onde se expandiu por todo o país. É amplamente cultivado nas regiões Norte e Nordeste, e vem se expandindo para o Centro-Oeste (BEZERRA, 2009).

O feijão caupi é uma cultura anual, apresentando germinação epígea, com seus cotilédones inseridos no primeiro nó do ramo principal. Seu sistema radicular é axial, com raízes superficiais, porém, podem atingir 2,0 m de profundidade, característica que confere a espécie tolerância a períodos secos. Em suas raízes é comum encontrar nódulos que auxiliam na absorção de nitrogênio através da fixação biológica de nitrogênio (FBN), realizado por microrganismos genericamente conhecidos como rizóbios (CHAGAS JUNIOR et al, 2009; SÁNCHEZ-NAVARRO, 2019).

A cultura do feijão caupi é uma espécie bem adaptada a ambientes estressantes associados a altas temperaturas, seca ou baixa fertilidade, e também considerada uma cultura alternativa adequada nas regiões áridas e semiáridas (EMBAPA, 2004; SOBRINHO, 2016; SÁNCHEZ-NAVARRO, 2019).

O caupi desempenha importante papel no agronegócio brasileiro sendo cultivado não somente pelos pequenos agricultores, se constituindo um alimento básico de subsistência (BEZERRA, 2009; SOUZA, 2015), mas também tem seu cultivo em franca expansão, há pelo menos 10 anos. Essa expansão ocorre, principalmente, para as áreas de cerrado das Regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, com a mesma tecnologia empregada no cultivo da soja (MENEZES JUNIOR, 2017; RODRIGUES, 2018)

De acordo com estimativas realizadas pela Embrapa Arroz e Feijão (2018), o feijão-caupi é o segundo tipo de feijão mais cultivado no Brasil. Podendo ser consumidas suas sementes (verdes e maduras), folhas, vagens verdes e produtos processados (farinhas) (SÁNCHEZ-NAVARRO, 2019). Suas sementes desempenham um papel importante na dieta humana devido ao seu valor nutricional, uma vez que é rica em fonte de proteína, calorias, minerais e vitaminas (DA SILVA, 2006; SÁNCHEZ-NAVARRO, 2019).

Atualmente, inexistem estatísticas oficiais sobre a produção de feijão-caupi. À exceção de alguns estados, o serviço de Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) publica os dados das duas espécies de forma conjunta (BASTOS, 2016). No entanto, a Embrapa Arroz e Feijão tem obtido estimativas, não oficiais (Tabela 1), sobre a produção anual de feijão-caupi no Brasil.

**Tabela 1.** Área, produção e produtividade de feijão-caupi no Brasil (1985 a 2018)

DADOS DE CONJUNTURA DA PRODUÇÃO DE FEIJÃO CAUPI ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp) NO BRASIL (1985 - 2018) *									
ANO	Caupi (Vigna) (1ª. Safra)			Caupi (Vigna) (2ª. Safra)			Total Caupi (Vigna)		
	Área (ha)	Prod. (t)	Rend (kg/ha)	Área (ha)	Prod. (t)	Rend. (kg/ha)	Área (ha)	Prod. (t)	Rend. (kg/ha)
1985	497.799	106.227	213	90.457	40.231	445	588.256	146.458	249
1986	570.961	160.610	281	97.494	52.298	536	668.455	212.908	319
1987	468.620	70.088	150	76.587	29.642	387	545.207	99.730	183
1988	562.048	206.510	367	87.205	37.811	434	649.253	244.321	376
1989	518.319	149.893	289	94.459	43.985	466	612.778	193.878	316
1990	482.150	111.429	231	313.966	114.291	364	796.116	225.720	284
1991	1.235.976	433.011	350	529.278	186.227	352	1.765.254	619.238	351
1992	1.143.404	203.324	178	511.576	121.892	238	1.654.980	325.216	197
1993	573.153	107.477	188	207.753	88.575	426	780.906	196.052	251
1994	1.396.373	514.288	368	592.652	245.084	414	1.989.025	759.372	382
1995	1.277.535	370.425	290	389.425	185.679	477	1.666.960	556.104	334
1996	1.258.261	404.414	321	322.750	168.474	522	1.581.011	572.888	362
1997	1.043.685	287.691	276	226.790	118.992	525	1.270.475	406.683	320
1998	686.368	88.635	129	202.020	107.453	532	888.388	196.088	221
1999	1.007.594	342.579	340	150.067	95.294	635	1.157.661	437.873	378
2000	1.055.700	405.357	384	135.286	80.296	594	1.190.986	485.653	408
2001	967.234	176.487	182	161.235	93.848	582	1.128.469	270.335	240
2002	1.199.151	354.628	296	276.743	135.777	491	1.475.894	490.405	332
2003	1.183.297	383.584	324	284.650	152.981	537	1.467.947	536.565	366
2004	1.099.916	290.816	264	319.786	177.021	554	1.419.702	467.837	330
2005	1.009.068	277.780	275	249.168	158.947	638	1.258.236	436.727	347
2006	1.091.260	422.478	387	337.366	191.707	568	1.428.626	614.185	430
2007	1.104.275	263.728	239	323.351	161.044	498	1.427.626	424.772	298
2008	1.171.595	458.321	391	346.924	197.239	569	1.518.519	655.560	432
2009	1.221.919	334.117	273	408.687	241.161	590	1.630.606	575.278	353
2010	1.058.004	275.203	260	241.785	140.151	580	1.299.789	415.354	320
2011	1.309.751	542.693	414	377.553	240.273	636	1.687.304	782.966	464
2012	725.199	111.051	153	258.075	219.165	849	983.274	330.216	336

2013	628.444	130.064	207	333.069	254.303	764	961.513	384.367	400
2014	831.518	234.950	283	370.973	247.715	668	1.202.491	482.665	401
2015	740.337	163.648	221	339.603	275.591	812	1.079.940	439.239	407
2016	728.413	130.596	179	337.762	214.156	634	1.066.175	344.752	323
2017	985.221	328.179	333	404.983	318.969	788	1.390.204	647.148	466
2018	1.077.684	428.670	398	408.339	309.378	758	1.486.023	738.048	497

Fonte: Embrapa Arroz e Feijão (2019).

No estado da Paraíba, o feijão-caupi é cultivado em quase todas as microrregiões, onde detém 75% das áreas de cultivo (OLIVEIRA et al., 2002). Em algumas regiões da Paraíba, os níveis baixos de produtividade têm sido constatados. Sabe-se que a baixa produtividade está associada ao plantio de cultivares tradicionais ou ao emprego de sementes de baixa qualidade agronômica, portanto, com pouca capacidade produtiva (OLIVEIRA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003).

Novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de melhorar a produtividade e qualidade do caupi, nestas áreas. Dentre essas tecnologias, destaca-se a fixação biológica do nitrogênio (FBN) que vem ganhando espaço entre os grandes produtores agrícolas, principalmente nos Cerrados dos Estados do Piauí e Maranhão (DE MEDEIROS et al., 2009).

O feijão-caupi possui a capacidade de nodular com uma ampla gama de rizóbios, sendo provável que os isolados presentes no solo sejam capazes de formar simbiose eficiente (SOUZA, 2015). Segundo De Medeiros (2007) a interação rizóbio/caupi é capaz de suprir de 35% a 70% de N que a planta necessita, que em outras palavras, cerca de 50 a 120 Kg ha<sup>-1</sup> de N.

### 3.2 Fixação biológica do nitrogênio (FBN)

A fixação de nitrogênio é o processo pelo qual alguns microrganismos de vida livre, associativos ou simbióticos fixam o nitrogênio atmosférico (MARCHETTI, 2017; CARVALHO, 2019), transformando-o em amônia, uma forma prontamente assimilável.

O nitrogênio é o nutriente que mais limita o desenvolvimento das plantas, principalmente em solos tropicais. Em contradição é o elemento mais abundante da atmosfera e quarto nas plantas, perdendo apenas para o carbono, oxigênio e hidrogênio (BEZERRA, 2009).

Em leguminosas os rizóbios se associam com o sistema radicular de plantas hospedeiras por meio de desenvolvimento de estruturas conhecidas como nódulos, onde

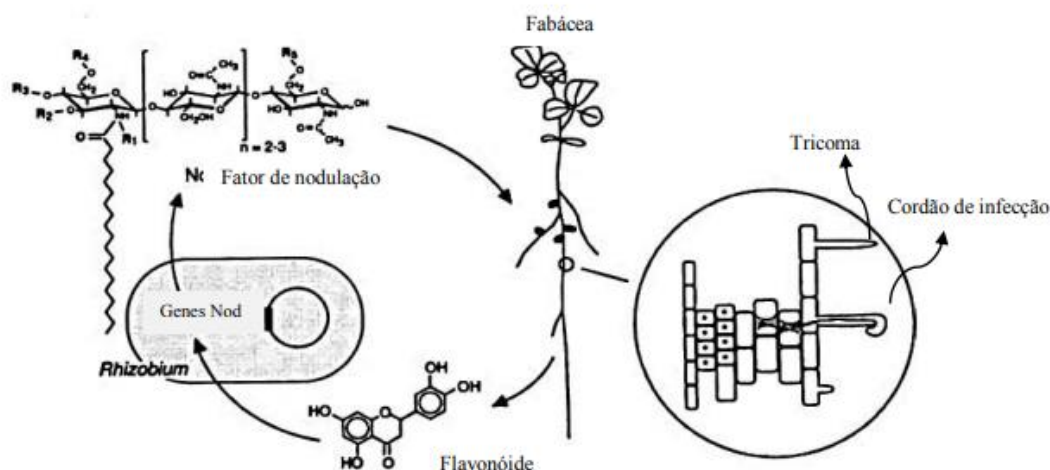


ocorre o processo de fixação de nitrogênio atmosférico (SOUZA, 2015). Essa associação é caracterizada como simbiose entre rizóbio- leguminosa que é de grande importância econômica aumentando a produtividade, diminuindo o uso de adubação nitrogenada, e reduzindo os custos de produção e ambiental, suprimindo o nitrogênio que a planta necessita, além de aumentar o sequestro de carbono no solo e diminuir a poluição (SOUZA, 2015),

A associação entre planta e microrganismo reflete um caráter evolutivo entre os hospedeiros, pelo os reconhecimentos dos sinais estabelecidos na relação simbiótica (MARCHETTI, 2017). As plantas selecionam e estimulam as comunidades microbianas que através da produção e liberação de exsudados radiculares (carboidratos, ácidos orgânicos, vitamina, aminoácidos e os derivados fenólicos). Essas substancias quando em contato com os microrganismos presentes na rizosfera, ativam os genes de nodulação (BEZERRA, 2009; SOUZA, 2015).

A troca de sinais moleculares ocorre com a ativação dos genes *nod*, onde a bactéria emite sinais específicos para o hospedeiro, induzindo as modificações radiculares, com as deformações e o aumento dos pelos radiculares, levando a formação dos nódulos (SOUZA, 2015; MARCHETTI, 2017). Após as modificações radiculares, ocorre a dissolução das paredes celulares, sendo formado um cordão de infecção que proporciona a entrada das bactérias nos nódulos, onde se diferenciam formando os bacterioides (Figura 1).

**Figura 1:** Troca de sinais químicos entre os simbiote Rizóbio-Planta



Fonte: Dias (2015).

Os bacterioides é composto pelo complexo enzimático denominado nitrogenase, responsável por reduzir o nitrogênio ( $N_2$ ) a amônia ( $NH_3$ ), e subsequentemente, assimila em

aminoácidos e proteínas (BEZERRA, 2009; TORABIAN, 2019), esta reação pode ser representada pela seguinte equação.



Em troca, a planta supre a bactéria com fontes de energia e carbono para sua manutenção (SOUZA, 2015; TORABIAN, 2019).

### 3.3 Fatores que influenciam a Fixação Biológica do Nitrogênio

Os estresses ambientais representam importantes fatores que afetam o processo de nodulação em leguminosas e a FBN (REIS, 2008; DIAS, 2015). Fatores como acidez do solo, elevadas temperaturas, salinidade e déficit hídrico, entre outros (FAGAN, 2007; LARANJO & OLIVEIRA; 2011).

As altas temperaturas do solo também ocasionam efeitos nocivos sobre as raízes das plantas, e as atividades microbiana, sendo um dos fatores que mais limitam esse processo nos trópicos (REIS, 2008). Esse estresse ambiental é ainda mais agravado quando combinado com condições ambientais de déficit hídrica, o que ocorre nas regiões áridas e semiáridas e em processos de desertificação (RUMJANEK et al 2005).

Para que o processo de nodulação aconteça de forma efetiva é importante que a temperatura seja adequada à atividade da nitrogenase. A temperatura ideal para o crescimento é 25°C a 30°C (LARANJO & OLIVEIRA; 2011), enquanto temperaturas em torno de 15°C causam diminuição da atividade ou até inibição em várias raças de bactérias fixadoras (FAGAN, 2007; LARANJO & OLIVEIRA; 2011).

Segundo Rumjanek et al. (2005), no grupo de rizóbio tropical, tem sido relado uma grande variabilidade quanto as habilidades de sobrevivência e crescimento em temperaturas adversas, a também a produção de muco por esses isolados quando crescida a temperaturas acima de 42°C em meio de cultura (XAVIER, 2007).

A salinidade também contribui negativamente para a FBN, reduzindo a nodulação da leguminosa pela inibição dos eventos simbiótico iniciais. No entanto, os rizóbios podem utilizar mecanismos distintos para a sua adapta-se a essas condições abióticas (RUMJANEK et al 2005; FAGHIRE, 2012; DIAS, 2015). O estresse salino também limita a produtividade das culturas leguminosas, e gera degradação da estabilidade do solo (VENTORINO, 2012).

A adaptação de bactérias simbióticas a ambientes desfavoráveis vem chamando atenção por serem capazes de tolerar elevadas concentrações de sal em meio de cultura, sendo

mencionado como exemplo rizóbios de origem de regiões áridas (RUMJANEK et al., 2005; XAVIER, 2007; VENTORINO, 2012), sendo capazes de formar colônias em até 3% de NaCl (FAGHIRE, 2012).

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos microbiológicos foram realizados na Unidade de Pesquisa em Microbiologia do Solo (UPMS), pertencente ao laboratório de Física do Solo localizado no Departamento de Solos e Engenharia Rural (DSER), do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), município de Areia, Paraíba.

##### 4.1 Seleção de nódulos e isolamento bacteriano

O isolamento das estipes foram realizado a partir de nódulos presente no banco de dados da coleção de culturas da UFPB/CCA/DSER/UPMS, obtidos de raízes de feijão-caupi, proveniente de duas áreas agrícolas sob Neossolo Litólico com histórico de cultivo de feijão-caupi, localizada no município de Santa Cruz, PB.

As amostras dos solos antes coletados pela foram encaminhadas ao Laboratório de Análise de Fertilidade do Solo, Departamento de Solos e Engenharia Rural, do Centro de Ciências Agrárias - UFPB para caracterização de química e fertilidade do solo (Tabela 1).

**Tabela 2.** Caracterização de química e fertilidade Neossolo Litólico.

Área	pH (H <sub>2</sub> O)	P	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>3+</sup>	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	SB	CTC	M.O.
	(1:2,5)	- mg dm <sup>-3</sup> -				cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					g kg <sup>-1</sup>
I	5,1	7,56	74,57	0,03	1,96	0,10	1,06	0,58	1,86	3,82	8,09
II	7,1	89,29	941,28	0,02	0,73	0,00	2,30	0,61	5,35	6,07	7,16

SB = Soma de bases; CTC = Capacidade de troca de cátions; M.O. = matéria orgânica.

Fonte: Própria.

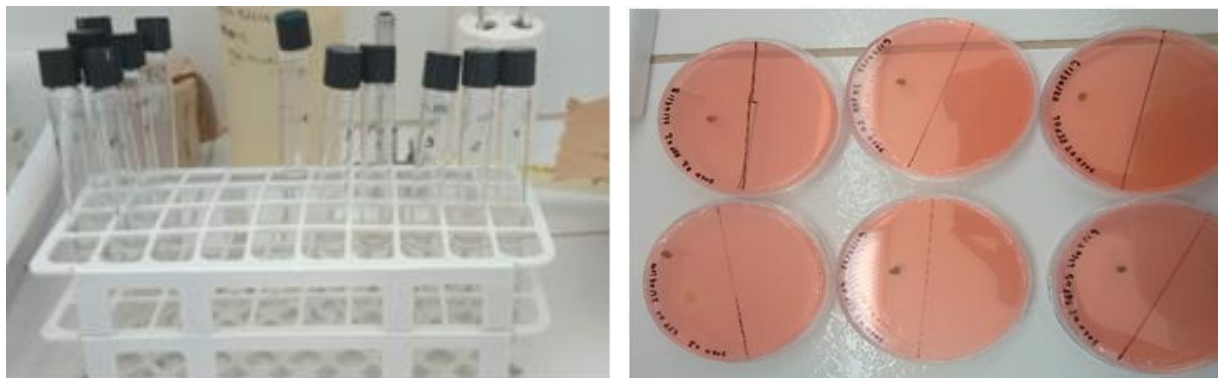
Para o procedimento da escolha de nódulos do banco de dados, foi utilizada a metodologia descrita por HUNGRIA (1994), em que consiste na seleção de um nódulo para cada repetição.

No laboratório, os nódulos foram previamente desinfestados por lavagens sucessivas em álcool (70%) por um minuto, seguidas de hipoclorito de sódio (2%) por 1 minuto e 3 lavagens com água destilada esterilizada em autoclave a 121°C.

Após a desinfestação, os nódulos foram esmagados com um bastão de vidro previamente autoclavado, em tubos estéreis contendo 5 mL de solução salina, posteriormente

foram inoculados em placas de petri contendo meio ágar levedura-manitol com vermelho congo (YMA), e incubados durante o período de sete dias até a formação de isolados referentes a área 1 (S0101, S0102, S0103, S0104, S0105 e S0106) e da área 2 (S0201, S0202, S0203, S0204, S0205 e S0206). (Figura 1).

**Figura 2.** Seleção e isolamento de nódulos em meio YMA



Fonte: Própria.

#### 4.2 Caracterização morfológica das estirpes

Primeiramente, os isolados foram analisados quanto à morfologia celular através do teste de coloração Gram, afim de obter colônias puras Gram negativas.

Posteriormente foi realizado a avaliação da morfologia das colônias a partir da inoculação dos isolados diluídos  $10^{-6}$ , em placas de Petri contendo meio de cultura YMA vermelho congo (meio seletivo para bactérias) e Azul de bromotimol (indicação de pH), com pH 6,8 a 28°C (Figura 2).

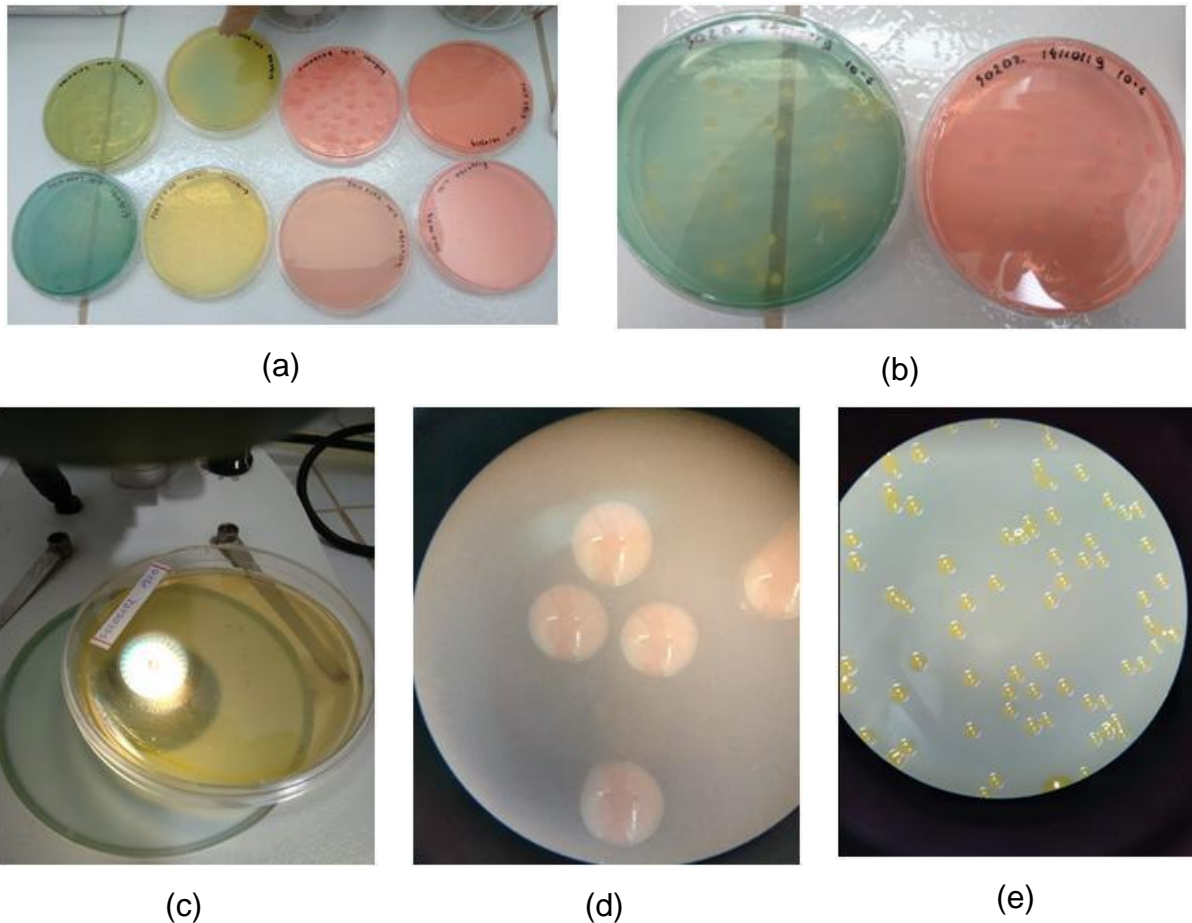
**Figura 3.** Processo de diluição seriada para inoculação em placas com meio YMA (vermelho congo e azul de bromotimol).



Fonte: Própria.

Sendo avaliadas as seguintes características segundo Araújo (1994): transparência (translúcida ou opaca); cor da colônia (branca, amarela ou rosa); tamanho (<1 mm ou >1 mm); borda (lisa, rugosa); elevação; taxa de crescimento (rápido, intermediário e lento); forma (circular ou puntiforme); pH (ácido, neutro ou básico) (Figura 3).

**Figura 4.** Análise morfológica das colônias de Bactérias



Fonte: Própria

Os mesmos foram incorporados a coleção de culturas da UFPB/CCA/DSER/UPMS, sendo preservados em tubos de cultura, contendo meio YMA inclinado, e mantidos sob refrigeração. Bem como, receberam uma ficha catalográfica, contendo todas as informações de estudo (Figura 4)

**Figura 5.** Material catalogado e adicionado ao banco de dados da UPMS.



Fonte: Própria

#### **4.3 Crescimento em diferentes temperaturas**

A capacidade de crescimento em diferentes temperaturas foi determinada pela inoculação em placas contendo meio YMA vermelho congo, onde os isolados foram incubados a temperaturas de 28, 30, 32, 34, e 36°C, seguindo a metodologia De Medeiros (2007) modificado, mediante a incubação em Biochemical Oxygen Demand (B.O.D). Os testes foram realizados em duplicatas, sendo inoculadas quatro bactérias por placa e o crescimento avaliado após sete dias. Placas que apresentavam desenvolvimento de colônia foram consideradas como resultado positivo e a falta de desenvolvimento de colônias foram considerados negativos (XAVIER et al., 2007).

#### **4.4 Crescimento em diferentes concentrações de NaCl**

Para o teste de salinidade, os isolados foram testados nas concentrações 4, 8, 12, 16 e 20g de NaCl por litro e ainda um controle com a concentração original do meio (0,01% NaCl). As bactérias foram repicadas em placa de Petri, com auxílio de alça de platina, em meio YMA com quatro repetições, e incubadas à 28°C, durante 7 dias (XAVIER et al., 2007).

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **5.1 Caracterização dos isolados**

Para análise do crescimento das colônias (Figura 6), 12 dos 13 isolados apresentaram crescimento rápido, ou seja crescimento em até 48 horas (JORDAN, 1894).

A maior parte dos estudos desenvolvidos até o momento mostra que o grupo de rizóbio que nodula caupi apresenta crescimento lento, característica do gênero

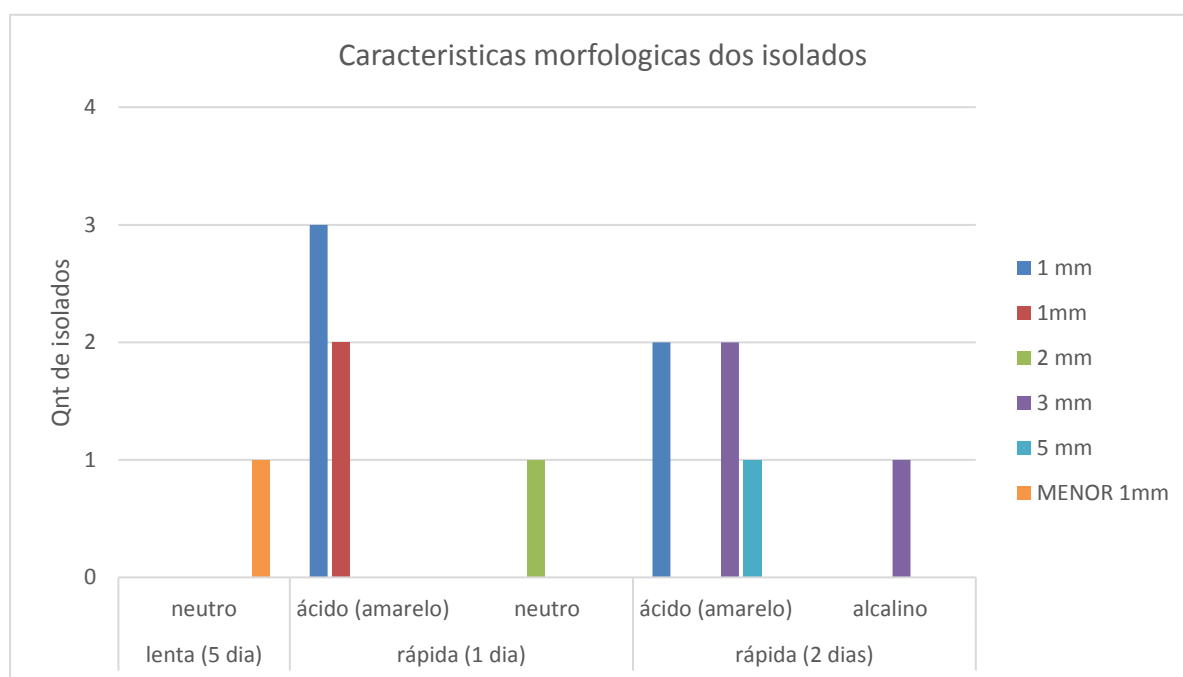
*Bradyrhizobium* (MELLONI, 2006). Entretanto, alguns trabalhos já evidenciaram que rizóbios de crescimento rápido também são capazes de induzir nódulos em caupi (SANTOS et al. 2007; MEDEIROS et al., 2009; PINHEIRO et al. 2014).

As presenças desses rizóbios de crescimento rápido são mais comuns em regiões áridas e semiáridas (MEDEIROS, 2009; DIAS, 2015). Esta característica constitui um mecanismo de sobrevivência desses microrganismos, já que são mais tolerantes a secas e se multiplicam rápido em curto espaço de tempo, o que explicaria seu maior aparecimento em solos do semiáridos, e sua maior frequência do que bactérias de crescimento lento (SANTOS et al. 2007; PINHEIRO et al. 2014).).

Em relação ao tamanho das colônias (Tabela 2), os isolados que obteve maior valor foi os isolados UPMS/UFPB Vu 46, seguida pela UPMS/UFPB Vu 38, UPMS/UFPB Vu 44, UPMS/UFPB Vu 47.

Foi verificada a alteração do pH do meio de cultura. Para esta variável foi observada que a maioria dos isolados foram capazes de acidificar o meio, tornando-o amarelo (Figura 6), resultados apresentados por Pinheiro et. al. (2014), mostra que essas características são típicas dos gêneros *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium*. MELLONI et al. (2006) citam que estirpe associadas ao gênero *Bradyrhizobium* que comumente se associam ao feijão-caupi possuem características de crescimento lento e capacidade de alcalinizar o meio, resultado esse diferente ao observado no presente estudo.

**Figura 6.** Características coloniais de isolados de rizóbios em meio YMA.



Fonte: Própria.

Neste estudo, todos os isolados obtidos apresentam produção de muco, embora a maioria apresente pouco muco. A produção de muco representaria um mecanismo envolvido no processo de adaptação e sobrevivência do rizóbio em condições adversas de solo e clima.

Ao final da caracterização dos isolados (Tabela 2) foi possível analisar a proporção de isolados que compartilham características entre si, a 80% similaridade, com a estirpe recomendada através do Dendograma de Sorensen-Dice (Figura 5), no qual foram obtidos sete grupos com atributos semelhantes (Figura 7);

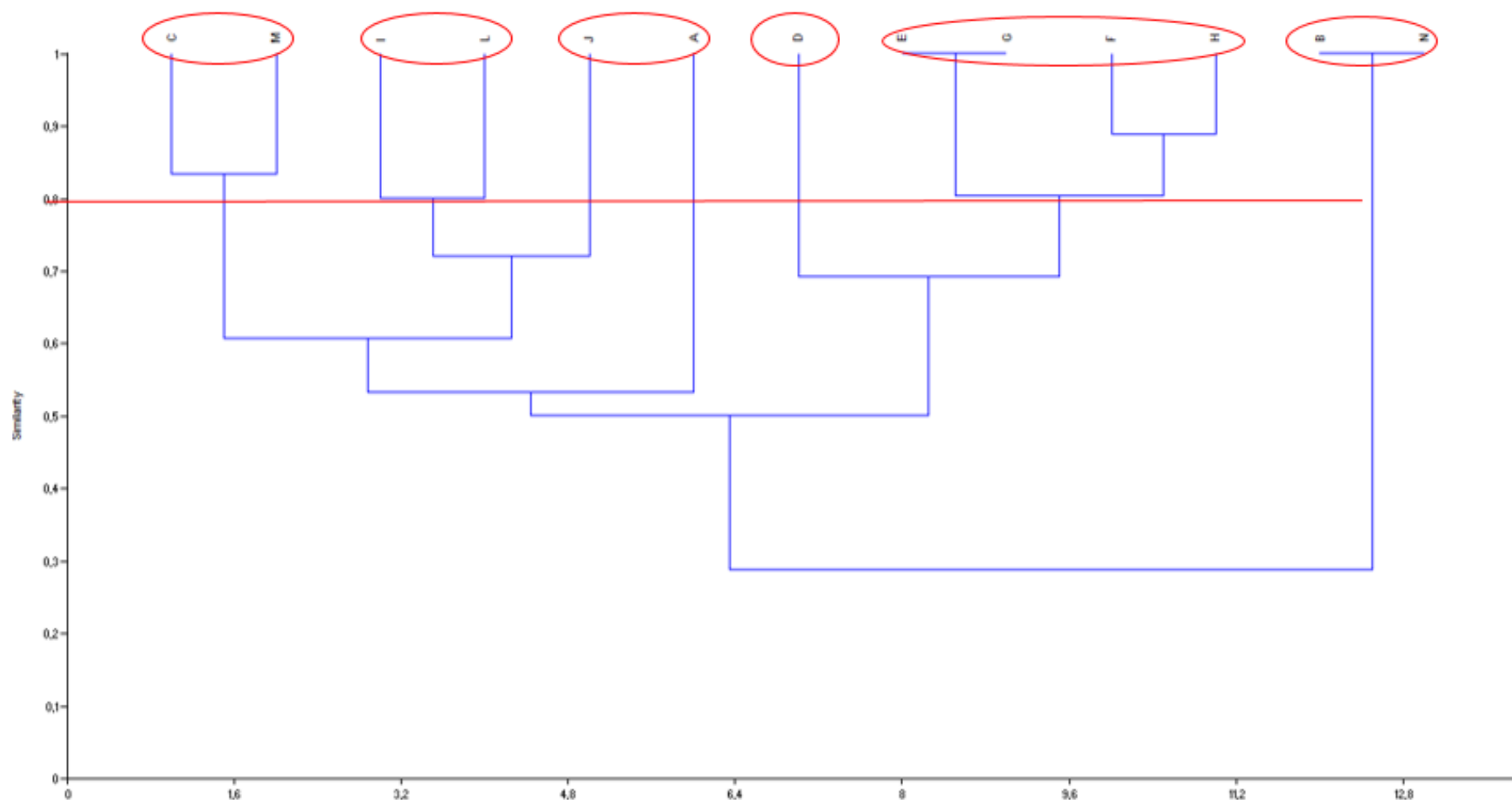


**Tabela 3.**Caracterização morfofisiológica dos isolados.

CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA															
ID Laboratório	ID UFPB	Crescimento (dias)	Tamanho	Alteração do pH no meio YMA (azul bromotimol)	Forma da colônia	Elevação da colônia	Borda da colônia	Superfície da colônia	Produção de muco	Consistência da massa de crescimento	Detalhes ópticos	Cromogênes da colônia no meio YMA (azul de bromotimol)	Cromogênes da colônia no meio YMA (vermelho congo)	Coloração Gram	Outras informações
Estirpe recomendada	03-84-6/2010	Lento (5 dias)	MENOR 1mm	Neutro	Puntiforme	Lenticular	Inteira	Lisa	Pouco	Aquosa	Translúcida	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0101	UPMS/UFPB Vu 37	Rápida (1 dia)	1 mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Lenticular	Ondulado	Lisa	Pouco	Gomosa	Translúcida	Branca	Rosa (bebê)	Negativo	Odor forte
S0102	UPMS/UFPB Vu 38	Rápida (2 dias)	3 mm	Ácido (amarelo)	Circular	Lenticular	Ondulado	Lisa	Pouco	Aquosa	Translúcida	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0103	UPMS/UFPB Vu 39	Rápida (1 dia)	2 mm	Neutro	Irregular	Lenticular	Inteira	Lisa	Pouco	Gomosa	Opaca	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0104	UPMS/UFPB Vu 40	Rápida (1 dia)	1 mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Lenticular	Inteira	Lisa	Escassa	Gomosa	Opaca	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	Odor forte
S0105	UPMS/UFPB Vu 41	Rápida (1 dia)	1mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Lenticular	Inteira	Lisa	Escassa	Aquosa	Opaca	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0106	UPMS/UFPB Vu 42	Rápida (1 dia)	1mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Lenticular	Inteira	Lisa	Pouco	Gomosa	Opaca	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0201	UPMS/UFPB Vu 43	Rápida (2 dias)	1 mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Lenticular	Inteira	Lisa	Escassa	Aquosa	Opaca	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0202	UPMS/UFPB Vu 44	Rápida (2 dias)	3 mm	Alcalino	Circular	Convexa	Inteira	Lisa	Moderada	Gomosa	Opaca	Amarelo	Rosado (levemente)	Negativo	
S0203	UPMS/UFPB Vu 45	Rápida (2 dias)	1 mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Convexa	Inteira	Lisa	Pouca	Gomosa	Translúcida	Amarelo	Rosado (levemente)	Negativo	
S0204	UPMS/UFPB Vu 46	Rápida (2 dias)	5 mm	Ácido (amarelo)	Circular	Convexa	Inteira	Lisa	Pouca	Gomosa	Opaca	Incolor	Rosado (levemente)	Negativo	
S0205	UPMS/UFPB Vu 47	Rápida (2 dias)	3 mm	Ácido (amarelo)	Circular	Convexa	Inteira	Lisa	Escassa	Aquosa	Translúcida	Amarelo	Rosa (bebê)	Negativo	
S0206	UPMS/UFPB Vu 48	Rápida (1 dia)	1 mm	Ácido (amarelo)	Puntiforme	Lenticular	Ondulado	Lisa	Pouca	Gomosa	Translúcida	Branca	Rosa (bebê)	Negativo	

Fonte: Própria.

**Figura 7.** Dendograma de Dice com agrupamento dos isolados



03-84-6/2010 – A/ UPMS/UFPB Vu 37- B /UPMS/UFPB Vu 38- C /UPMS/UFPB Vu 39- D /UPMS/UFPB Vu 40- E /UPMS/UFPB Vu 41- F /UPMS/UFPB Vu 42- G /UPMS/UFPB Vu 43- H /UPMS/UFPB Vu 44- I /UPMS/UFPB Vu 45- J/UPMS/UFPB Vu 46- L /UPMS/UFPB Vu 47- M/UPMS/UFPB Vu 48- N

Fonte: Própria.

## 5.2 Resistência a diferentes estresses abióticos

As adaptações de pressões específicas do ambiente, pode estar relacionado com o local de origem dos rizóbios (XAVIER et al., 2007). Quanto a análise do crescimento das colônias em diferentes temperaturas (Tabela 3), os trezes isolados analisados obtiveram crescimento positivo para as cinco temperaturas (28, 30, 32, 34 e 36°C). Segundo Pinheiro et al. (2014) observaram que os rizóbios em geral, crescem bem até aproximadamente 40°C, e que valores superiores reduzem drasticamente suas capacidades de crescimento.

**Tabela 4.** Crescimento em diferentes concentrações de NaCl e em diferentes temperaturas.

Estirpes	Concentrações de NaCl					Temperatura				
	4	8	12	16	20	28	30	32	34	36
	----- g L <sup>-1</sup> -----					----- °C -----				
03-84-06/2010	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0101	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0102	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0103	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0104	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0105	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0106	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0201	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0202	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0203	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0204	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0205	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S0206	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: Sinal de (+) indica crescimento, (-) ausência de crescimento.

Fonte: Própria.

Para o teste de resistência a salinidade, todos os isolados, apresentaram desenvolvimento positivo para todos os cinco níveis de salinidade (Tabela 3). Essa tolerância ao estresse salino pode ser atribuída a variações de pH, temperatura e fonte de carbono solúvel (DE MEDEIROS et al., 2007)

Essa a tolerância à salinidade vem sendo estudada por diversos autores que afirmam que o nível de tolerância de tais bactérias encontra-se numa escala entre 0 e 60g L<sup>-1</sup> de NaCl, corroborando com o presente trabalho (XAVIER et al., 2007; DE MEDEIROS et al. 2007; LARANJO & OLIVEIRA, 2011). O estresse salino funciona como um regulador negativo da nodulação afetando diretamente o crescimento das plantas (PINHEIRO et al. 2014).

## **6 CONCLUSÕES**

As estirpes caracterizadas morfolologicamente em laboratório mostraram tolerância positiva para as variações De temperatura e concentrações de NaCl. Todos os isolados caracterizado do solo de Santa Cruz apresentou-se com crescimento em até 48 horas.

Diversidade de rizóbio encontrada nesta região pode ajudar na seleção de estirpes adaptadas, competitivas e aptas a proporcionar uma FBN alta visando a obtenção de inoculantes para o feijão- caupi, já que possuem boa adaptabilidade a temperaturas e salinidade, próximas daquela encontrada nos solos.

## 7 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. S. Caracterização morfológica, fisiológica e bioquímica do rizóbio. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de micorbiologia agrícola**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília, 1994.

BASTOS, E. A. (Coord.). **A Cultura do feijão-caupi no Brasil**. In: **SOBRINHO, C. A. Principais Doenças do Feijão-Caupi no Brasil**. Embrapa Meio-Norte; Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Divisão de Análise de Risco de Pragas, 2016. 70 p.

BEZERRA, R. V. **Biodiversidade e efetividade de rizóbios nativos de solos do semi-árido de Pernambuco em caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp)**. 2009. 70 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

CARVALHO, L. R. et al. Nodulation and biological nitrogen fixation (BNF) in forage peanut (*Arachis pintoi*) cv. Belmonte subjected to grazing regimes. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 278, p. 96-106, 2019\

CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. Efetividade de rizóbios e caracterização fenotípica dos isolados que nodulam feijão-caupi em solos da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 3, p. 489-494, 2009.

COLETTA, L. D. Estudo da fixação biológica do nitrogênio em leguminosas (família Fabaceae) arbóreas tropicais através do enriquecimento isotópico do <sup>15</sup>N. Piracicaba, 2010.

DA SILVA, V. N et al. Atuação de rizóbios com rizobactéria promotora de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 3, p. 407-412, 2006.

DA SILVA, V.N et al. Caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de solo da região semi-árida de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 1, p. 16-21, 2007.

DE MEDEIROS, E. V et al. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e salinidade. **Revista de Biologia e ciências da terra**, v. 7, n. 2, 2007.

DIAS, Suelane de Melo. Morfofisiologia de isolados de rizóbios de fabáceas forrageiras do semiárido pernambucano. 2015. 107 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns

**EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO.** Dados conjunturais da produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 a 2018): área, produção e rendimento. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, **2019**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 21 abril 2020.

EMBRAPA. Cultivo do feijão-caupi. EMBRAPA Meio Norte. Teresina, PI. Setembro de 2004.

EMBRAPA: Disponível em:<<https://www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio/nota-tecnica>>. Acesso em: 20 fev 2020.

FAGAN, Evandro Binotto et al. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja-Revisão. **Revista da FZVA**, v. 14, n. 1, 2007.

FAGHIRE, M. et al. Identification at the species and symbiovar levels of strains nodulating *Phaseolus vulgaris* in saline soils of the Marrakech region (Morocco) and analysis of the *otsA* gene putatively involved in osmotolerance. **Systematic and applied microbiology**, v. 35, n. 3, p. 156-164, 2012.

FREIRE FILHO, FR de. Origem, evolução e domesticação do caupi. **Embrapa Meio-Norte- Capítulo em livro científico (ALICE)**, 1988.

FRIGO, Gislane Renata et al. Feijão caupi submetido à inoculação com rizóbio e cultivado em latossolo do cerrado matrogrossense. 2013. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola) - Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis.

HUNGRIA, M et al. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, DF: Embrapa-Serviço de Produção e Informação, 1994.

JORDAN, D. C. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 136-139, 1982.

Laranjo, M.; Oliveira, S. Tolerance of Mesorhizobium type strains to different environmental stresses. *Antonie van Leeuwenhoek* **99**, 651–662 (2011). <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9539-9>

LORENTINO, Ligiane Aparecida et al. Diversity and efficiency of bradyrhizobium strains isolated from soil samples collected from around sesbania virgata roots using cowpea as trap species. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 34, n.4, p. 1113-1123, Aug. 2010 .

MARCHETTI, M. M et al. Caracterização de bactérias em nódulos de leguminosas arbóreas de fragmentos da floresta ombrófila mista. **Scientia agrária**, v. 18, n. 4, p. 50-62, 2017.

MEDEIROS, E. V. de et al. Diversidade morfológica de rizóbios isolados de caupi cultivado em solos do Estado do Rio Grande do Norte. **Acta Sci., Agron.**, Maringá, v.31, n.3, p.529-535, Sept. 2009. Available from [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1807-86212009000300024&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86212009000300024&lng=en&nrm=iso). access on 21 Apr. 2020. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.793>.

MELLONI, R et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 30, p. 235-246, 2006.

MENEZES JUNIOR, J. A. de. Et al., In: DOVALE, J. C.; BERTINI, C.; BORÉM, A. (Ed.). Feijão-caupi: do plantio à colheita. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2017. p. 244-267.

OLIVEIRA, A. P. et al., Rendimento de feijão-caupi em função de doses e formas de aplicação de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 77-80, março 2003.

OLIVEIRA, A.P. et al., Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 180-182, junho 2002.

OLIVEIRA, Ademar Pereira de et al. Rendimento produtivo e econômico do feijão-caupi em função de doses de potássio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 629-634, 2009.

PINHEIRO, M. S. et al. **Isolamento e seleção de estirpes de rizóbios nativas do semiárido tolerantes a estresses ambientais**. Enciclopédia Biosfera, v. 10, n. 18, p. 2071-2082, 2014.

REIS, V. M. et al. Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

RODRIGUES, B. H. N. et al. Produtividade de feijão-caupi" BRS imponente" cultivado em plantio direto, em diferentes regimes hídricos no semiárido piauiense. **Embrapa Meio-Norte- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2018.

RUMJANEK, N. G et al. Fixação Biológica de Nitrogênio. In: Freire Filho, F. R.; Lima, J. A. de A.; Silva, P. H. S.; Viana, F. M. P. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**, 2005, p. 279-335.

SÁNCHEZ-NAVARRO, V. et al. Does the use of cowpea in rotation with a vegetable crop improve soil quality and crop yield and quality? A field study in SE Spain. **European Journal of Agronomy**, v. 107, p. 10-17, 2019.

SANTOS, C. E. R. S. et al. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 4, p. 249-256, 2007.

SOUZA, A. C. de M. Seleção de rizóbios e compatibilidade simbiótica em diferentes variedades de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). 2015. 68 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

TORABIAN, S. et al. Do tillage systems influence nitrogen fixation in legumes? A review. **Soil and Tillage Research**, 185, 113-121, 2019.

Ventorino, V. et al. Response to salinity stress of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* strains in the presence of different legume host plants. *Ann Microbiol* **62**, 811–823 (2012). <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0322-6>

XAVIER, G. R. et al. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição in vitro. **Revista Caatinga**, v. 20, n. 4, p. 1-9, 2007.

ZILLI, J. É. et al. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 4, p. 749-757, 2009.

ZILLI, J. É. et al. Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 35, n. 3, p. 739-742, 2011.



## APÊNDICE

### Fichas catalográficas

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 37 ID Laboratório: S0101

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☐ ) inteira ( ☒ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☒ ) translúcido ( ☐ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☒ ) branco ( ☐ ) creme ( ☐ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Odor forte

Data: 20 /12 / 2019      Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 38      ID Laboratório: S0102  
Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias)      ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias)      ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

3 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias  
\_\_ mm aos \_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☐ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☒ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☐ ) inteira ( ☒ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☒ ) aquosa ( ☐ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☒ ) translúcido ( ☐ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019      Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 39 ID Laboratório: S0103

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

2 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_ mm aos \_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☐ ) ácida ( ☒ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☐ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☒ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 40 ID Laboratório: S0104

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☒ ) escassa ( ☐ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☒ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Odor forte

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 41 ID Laboratório: S0105

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☒ ) escassa ( ☐ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☒ ) aquosa ( ☐ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 42 ID Laboratório: S0106

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 43 ID Laboratório: S0201

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☒ ) escassa ( ☐ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☒ ) aquosa ( ☐ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 44 ID Laboratório: S0202

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

3 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☐ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☒ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☐ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☒ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☐ ) lenticular ( ☒ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☐ ) pouca ( ☒ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☒ ) rosado (levemente) ( ☐ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.



ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 45 ID Laboratório: S0203

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias  
\_\_ mm aos \_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☐ ) lenticular ( ☒ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☒ ) translúcido ( ☐ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☒ ) rosado (levemente) ( ☐ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 46 ID Laboratório: S0204

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

5 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☐ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☒ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☐ ) lenticular ( ☒ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☐ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☐ ) translúcido ( ☒ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☒ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☐ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☒ ) rosado (levemente) ( ☐ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 47 ID Laboratório: S0205

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

3 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☐ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☒ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☐ ) lenticular ( ☒ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☒ ) inteira ( ☐ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☒ ) escassa ( ☐ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☒ ) aquosa ( ☐ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☒ ) translúcido ( ☐ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) creme ( ☒ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.

ID UFPB: UPMS/UFPB Vu 48 ID Laboratório: S0206

Localidade: Santa Cruz- PB

As características dos itens 3 a 14 devem ser observadas na fase final de avaliação, a partir da anotação do diâmetro das colônias.

1 Manifestação do crescimento (Colônia isolada):

( ☒ ) rápida (até 2 dias) ( ☐ ) lenta (4 a 5 dias) ( ☐ ) muito lenta (acima de 10 dias)

2 Tamanhos (diâmetro das colônias)

1 mm aos 2 dias (na manifestação das colônias isoladas) rápido- 2 dias intermediário- 4 dias

\_\_\_ mm aos \_\_\_ dias (no final da avaliação) lento- 5 dias muito lento- 10 dias

3 Alteração do pH no meio YMA com o indicador Azul de Bromotimol:

( ☒ ) ácida ( ☐ ) neutro (sem alteração de cor) ( ☐ ) alcalino (azul)

4 Formas da colônia:

( ☒ ) puntiforme (até 1 mm) ( ☐ ) circular ( ☐ ) irregular

5 Elevação da colônia:

( ☐ ) plana ( ☒ ) lenticular ( ☐ ) convexa ( ☐ ) pulvinada (drop- like)

6 Borda da colônia:

( ☐ ) inteira ( ☒ ) ondulada ( ☐ ) lobada ( ☐ ) denteada ( ☐ ) filamentosa

7 Superfícies da colônia:

( ☒ ) lisa ( ☐ ) rugosa ( ☐ ) papilada

8 Produção de muco:

( ☐ ) escassa ( ☒ ) pouca ( ☐ ) moderada ( ☐ ) abundante

9 Consistência da massa de crescimento:

( ☐ ) seca ( ☒ ) aquosa ( ☒ ) gomosa ( ☐ ) viscosa (elástica) ( ☐ ) butírica (manteiga)

10 Detalhes ópticos:

( ☐ ) transparente ( ☒ ) translúcido ( ☐ ) opaco

11 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Azul de Bromotimol:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☒ ) branco ( ☐ ) creme ( ☐ ) amarelo ( ☐ ) rosa

12 Cromogênese da colônia em meio YMA com corante Vermelho Congo:

( ☐ ) incolor (lupa) ( ☐ ) branco ( ☐ ) rosado (levemente) ( ☒ ) rosa (bebê) ( ☐ ) avermelhado (centro) ( ☐ ) vermelho

13 Coloração Gram:

( ☐ ) Gram-Positiva cor violeta ( ☒ ) Gram-Negativa cor vermelha

14 Outras informações (registrar no verso)

Data: 20 /12 / 2019

Responsável: ARAÚJO, A. V S.